

AG 177752

HDB → Doc

FLHOR Réunion / RAPPORT ANNUEL D'EXECUTION DES CONVENTIONS 1997

RP10270



19 AOÛT 1998

FILIERE

MARAICHAGE



RP11233

FILIERE MARAICHAGE

Liste des PROJETS et OPERATIONS ~ 1997

PROJETS	OPERATIONS	TITRES	RESPONSABLES	TEMPS
221		Amélioration de la production des plantes maraîchères	J.P. LYANNAZ	
	22101	Phytotechnie des productions maraîchères pour une meilleure qualité et une réduction des coûts	J.P. LYANNAZ V.A.T.	100 % 70 %
	22102	Itinéraire technique pour une tomate de qualité avec coûts limités et respect de l'environnement (Financement européen)	V.A.T. (opération nouvelle)	30 %
* 941		Inventaire des ennemis des cultures et protection des plantes	J.C. GIRARD	
	94103	Lutte contre les bactérioses économiquement importantes des cultures maraîchères et aromatiques	J. LUISETTI (INRA)	100 %
	94104	Lutte contre les viroses des cultures maraîchères	M. GRISONI	40 %
	94105	Lutte contre les insectes ravageurs des cultures maraîchères	J.F. VAYSSIERES	100 %

* Les projets dont le numéro commence par 9 sont des projets intéressant plusieurs filières. De ce fait, les opérations sont réparties selon la filière à laquelle elles se rattachent.

Projet 221

**Amélioration de la production
des plantes maraîchères**

Opération N° 22101 -
Phytotechnie des productions maraîchères pour une meilleure qualité
et une réduction des coûts

Chercheur : J-P. LYANNAZ

I- Collection d'échalotes

La collection comporte une vingtaine de variétés issues de la collection tropicale rassemblée par M. C.M. MESSIAEN (INRA) et introduite en 1993. Elle est maintenue depuis 1996 sur la station de Bassin-Martin.

Les observations réalisées en 1997 sur un cycle (plantation le 26-28/03/97, récolte le 05/09/97) ont mis en évidence l'intérêt présenté par certaines variétés (voir tableau ci-après variétés en grisé) mais également les difficultés pour évaluer le point de récolte (stade tombaison moins bien marqué que chez l'oignon). Ces difficultés sont liées également à un phénomène de développement continu des points végétatifs contenus dans les bulbilles, ce qui entraîne chez certaines variétés, un taux de multiplication exagéré induisant des calibres de bulbilles trop réduits.

Les tests de sensibilité au virus OYDV (M. GRISONI) ont montré que seul le type "Sumenep" était résistant. Malheureusement, cette variété ne présentent pas les meilleurs potentiels de production. Une dernière approche en double cycle sur les meilleures variétés sera tentée en 1998 pour parachever cette étude et tirer des conclusions sur l'intérêt agroéconomique de cette espèce.

II- Collection de variétés réunionnaises d'ail

Au total, 16 variétés locales rassemblées, épurées et multipliées depuis 1990 ont été mises en place sur la station de Bassin-Martin. Les observations sur ces variétés ont été poursuivies en 1997. Aucune différence significative n'a pu être observée sur les calibres sauf pour l'ail de Chine et l'ail Madagascar qui présentent des calibres en moyenne inférieurs. L'incidence des viroses (OYDV, LYSV) est certainement responsable des calibres très moyens enregistrés sur l'ensemble des variétés.

Le programme de multiplication de variétés assainies (Ail rouge et Vacoa) se heurte à un problème de faible taux de multiplication avec la variété Vacoa, variété qui s'avère être malheureusement la seule demandée par les producteurs. Le même problème se pose au niveau du nouveau programme de régénération initié avec l'Université de Gembloux sur la variété Vacoa Fontaine.

Pour essayer de faire face à cette contrainte, le laboratoire de cultures in vitro CIRAD-FLHOR/VITROPIC de Montpellier a été mis à contribution pour la mise au point d'une nouvelle méthode de multiplication par embryogénèse somatique à partir de différents types d'explants. Cette méthode, si elle s'avère opérationnelle, devrait permettre une amplification plus rapide du matériel végétal.

III- Amélioration de l'oignon

L'expérimentation sur l'amélioration du matériel végétal local a dû être interrompu suite à un accident survenu sur le terrain: des attaques de fourterelles ont complètement détruit les semis d'hybrides mis en place chez M.JB GRONDIN. Une concertation devrait s'établir avec les professionnels et M.GRONDIN pour envisager la

reprise éventuelle d'un programme allégé de création variétale comme cela avait été envisagé au cours de la réunion technique préparatoire de la Commission Tripartite.

IV- Amélioration des systèmes de culture de tomate hors-sol

IV.1. Essai en station

Compte tenu des problèmes d'approvisionnement en pouzzolane locale et de l'apparition sur le marché réunionnais de différentes natures et origines de fibres de coco, l'essai sur l'étude des substrats amorcé en 1996 a été reconsidéré: trois types de fibres coco sont mis en comparaison avec le sac vapo traditionnel. L'objectif étant de vérifier l'intérêt de ces fibres dans une utilisation prolongée sur plusieurs cycles. Les bordures sont utilisées pour poursuivre le comportement comparé des copeaux de cryptomeria, de la pouzzolane et d'un type de fibre coco en deuxième cycle. La plantation a été effectuée mi-décembre.

Couplé à cet essai, un travail de mise au point de la gestion de la fertirrigation par sondes d'humidité est en cours en collaboration avec un producteur et l'ARMEFLHOR.

IV.2. Essais chez les producteurs:

Deux essais substrats sont en cours et suivis en collaboration avec l'ARMEFLHOR:

- Essai de différentes fibres coco avec différents volumes en sacs : plantation le 5/12/97 chez D. GRENIER.
- Essai comparatif en système de gouttière avec pouzzolane, fibre coco, scorie de charbon (Centrale du Gol): plantation le 15/11/97 chez B. LEROY.

V. Etude du greffage de la tomate pour lutter contre le flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*)

Pour palier au problème pratique rencontré avec le greffage sur *Solanum torvum* (Aubergine sauvage), technique encore utilisée par quelques agriculteurs, nous nous sommes orienté vers le greffage sur tomate résistante.

V.1. Recherche de porte-greffes résistants au flétrissement bactérien

Après un travail de collecte de nombreuses variétés données pour résistantes par les maisons commerciales, les premiers tests en chambre d'inoculation réalisés par l'équipe de J. LUISETTI n'ont malheureusement pas donnés les résultats escomptés (souches des différents biovars affaiblies? mauvais itinéraire technique?). Seuls les premiers tests en culture sous abris de pleine terre chez les agriculteurs ont permis l'élimination de variétés non résistantes aux souches locales.

V.2. Mise au point de la technique de greffage

Deux nouvelles méthodes sont à l'étude dans le contexte réunionnais:

- * greffage en jonction oblique avec bague de silicone
- * greffage en jonction transversale avec aiguille en céramique en comparaison avec la méthode classique de fente en tête.

La technique des bagues de silicone semble être la plus prometteuse (80% de reprise).

Cependant, un itinéraire technique simple et facilement transposable reste à mettre au point (température et hygrométrie optimum, stade optimum de greffage, stress hydrique avant greffage, brumisation, sub-irrigation, passage à l'obscurité pour améliorer la reprise ...).

VI- Mise en place et suivi agronomique d'une parcelle d'étude de la tolérance de variétés de tomates au flétrissement bactérien

Dans le cadre de notre collaboration avec l'AVRDC, un essai a été mis en place (déc 96) à Ligne Paradis, sous la responsabilité de J.LUISETTI. 36 variétés de tomate fournies par l'AVRDC ont été testées vis à vis de leur résistance ou tolérance aux souches locales de flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*).

Au total, 13 variétés ont été confirmées comme résistantes au biovar3 race1 présent dans le sol à cette période de l'année. Les contacts ont été repris avec l'AVRDC pour un réapprovisionnement en ces semences, afin de pouvoir expérimenter leur comportement agronomique d'une part, et leur comportement comme porte greffes d'autre part.

PUBLICATIONS EN 1997

néant

STAGIAIRES RECUS EN 1997

néant

MISSIONS IMPORTANTES RECUES EN 1997

Hubert de BON, Chef du Programme des Productions Horticoles (CIRAD-FLHOR) du 12 au 18/05/1997
Eric MALEZIEUX, Mission AGER du CIRAD le 19/10/97
Frédéric d'ACHERY, Conseiller Général de Mayotte le 3/12/97

AG 177754

→ soustine p 2 SUP



PROJET N° 221
Opération N° 22102

Opération N° 22102 -
Itinéraire technique pour une tomate de qualité avec coûts limités
et respect de l'environnement (Projet européen)

Chercheur : J-P. LYANNAZ

op. 22102
2 échelons

variété	Hauteur de tige	Nbre de subdivisions	Pds moy, des bulbilles
SUMENEP	32,65	20,2	1,3
BRAZZAVILLE 8	47,95	8,3	2,0
Brazzaville rouge NF	39,75	6,7	1,8
Brazzaville 8 NF	29,10	6,7	1,2
Brazzaville	27,75	6,0	1,7
Brazzaville 2	37,63	7,7	1,2
Guinée	49,15	4,8	20,2
Abidjan	40,45	4,0	8,1
BALI	35,06	11,1	3,3
EGOA*(A)B15	33,00	1,2	6,1
EGOA*H2-1	10,25	3,0	0,3
EGOA*H2-2	27,65	2,1	1,4
EGOA*H2-4	47,10	2,3	8,2
EGOA*H2-5	25,95	5,1	1,4
EGOA*H2-11	33,50	11,2	1,5
EGOA*H2-15	37,30	8,1	0,8
OAE 2-2	47,60	14,2	2,7
OAE 2-19	41,65	11,8	2,4
INDONESIE	37,10	13,1	1,6
EGOA H2 Mélange	10,35	2,6	1,5

I- Objectifs

Le projet européen QUALITOM prévu sur 3 ans et 11 sites d'expérimentation a pour objectif de mettre au point un itinéraire technique et des outils d'aide à la décision pour cultiver une tomate d'industrie de qualité, avec des coûts limités et en respectant l'environnement. Un ensemble de règles conditionnelles prenant en compte les états successifs de la culture et du milieu pour préconiser des actions culturales est testé dans des conditions variées pour être validé. Dans un contexte pédo-climatique et socio-économique particulier, le CIRAD-FLHOR Réunion, en coordination avec les autres sites d'expérimentation, a mis en place un itinéraire technique de culture fondé sur ces règles de décision (IT1) et un autre mené comme référence, avec des pratiques locales de production de tomate de plein champ (IT2).

II- Résultats

Cette première année du projet doit être considérée comme une année de rodage qui aura permis de préciser les points faibles portant sur les règles de décision ainsi que sur le fonctionnement de certains modèles. On notera les difficultés enregistrées suivantes:

- Le retard dans l'élaboration et la transmission du protocole ont empêché de gérer convenablement l'irrigation et la fertilisation.

- La présence de *Trirhithromya cyaneescens* (mouche de la tomate) a conduit à traiter les parcelles régulièrement, ce qui a empêché de tester les seuils d'intervention contre d'autres ravageurs.

- Le modèle de prévision des risques de mildiou (*Phytophthora infestans*) qui ne prenait pas en compte la durée d'humectation du feuillage (rosée) a mal fonctionné. L'infestation par ce champignon et par le virus PVY a provoqué d'importants dégâts.

- La récolte unique au cours d'une maturation très étalée n'a permis de récolter que 16,5 t/ha sur IT1 et 22,3 t/ha sur IT2. Cependant, IT1 a produit plus qu'IT2 lors de récoltes échelonnées.

- En raison de l'état sanitaire de la culture, la qualité des fruits n'a pas pu être étudiée.

Aussi, les résultats espérés n'ont pas tous été obtenus, tous sites confondus, mais l'expérimentation menée en 1997 devrait permettre d'ajuster les protocoles de manière à obtenir des résultats exploitables en 1998 et 1999. A noter cependant que la conduite simultanée de deux itinéraires a permis de commencer à sélectionner les pratiques les plus adaptées au contexte réunionnais, les moins coûteuses pour le producteur et pour l'environnement:

- Préparation du terrain:

La préparation effectuée sur IT1 (labour+disquage+buttage) est la plus adaptée au type de sol.

La localisation d'un engrais starter avant la plantation (100 kg/ha de phosphate mono-amonique) a montré son efficacité: meilleur démarrage du plant en relation avec un meilleur enracinement.

- Plantation:

Enterrer les mottes à 6 cm de profondeur est suffisant et indispensable pour l'application de l'herbicide Sencoral (métribuzine)

La densité de plantation la plus adaptée reste à déterminer.

- Entretien:

Le desherbage peut se faire par un faux semis sur sol travaillé suivi d'un défanant systémique (glyphosate). Ensuite, deux applications de métribuzine (Sencoral) suffisent jusqu'à la récolte: 0,5 Kg/ha à la reprise puis 0,2 Kg/ha deux semaines après, suivies d'une irrigation par aspersion (10 mm). Il faut pulvériser le sol sur la planche entière sans craindre de toucher le feuillage des jeunes plants.

- Fertilisation:

La fertilisation "starter" paraît suffire pour conduire les plants jusqu'à la floraison. La quantité à apporter reste encore à préciser: 50 à 60 Unités d'azote semblent suffisantes. Il paraît également judicieux d'apporter des fractionnements importants en début de floraison et de les diminuer jusqu'à arrêt complet, avant la maturation des premiers fruits.

A ce titre, il est intéressant de comparer les deux itinéraires IT1 et IT2 quant à l'évolution des teneurs en nitrates dans le sol. Il apparaît en effet sur le graphique suivant, que dans l'itinéraire technique IT1, compte tenu de la faible teneur en nitrate enregistrée en profondeur, il y a peu ou pas de perte de nitrates par lessivage comparativement à l'itinéraire technique local IT2. D'où l'intérêt de ces résultats tant sur le plan réduction des intrants que sur celui de l'environnement.

- Irrigation:

Après plantation, le sol doit être amené à sa capacité au champ, puis des irrigations abondantes et peu fréquentes sont généralement préconisées. Pendant la floraison, le sol doit être maintenu humide par de petites irrigations fréquentes. Pendant la maturation, la diminution des doses et fréquences permet de minimiser les risques de pourriture des fruits. L'objectif du producteur de petites tomates n'étant pas de grouper sa récolte, l'irrigation peut être maintenue jusqu'à deux semaines environ avant sa dernière récolte.

Des tensiomètres placés à 25, 50, et 100 cm de profondeur peuvent aider à gérer l'irrigation car ils rendent bien compte de l'état hydrique du sol à différentes profondeurs. Pour vulgariser leur utilisation, il serait intéressant de déterminer des seuils de tension pour déclencher l'irrigation selon les stades de la culture.

- Protection de la culture:

En attendant la mise au point d'indicateurs de seuils de traitement fiables, en particulier contre le mildiou et certaines bactérioses, des traitements préventifs sont à préconiser: traitement cuivre+mancozèbe toutes les

deux semaines, renouvelé en cas de pluies très abondantes. En période humide et pluvieuse, ces traitements peuvent devenir hebdomadaires.

Concernant les ravageurs, il serait intéressant d'utiliser les pièges à mouches pour contrôler les populations de *T. Cyanescens* et d'en déterminer des seuils de traitement. Le projet a bien confirmé l'intérêt qu'il y avait à éliminer systématiquement les plantes hôte potentielles de la mouche (toutes les Solanacées à fruits) pour un meilleur contrôle des populations.

Compte tenu de l'incidence récente et grave d'un géminivirus sur tomate, une attention particulière devra être portée en 1998 sur le contrôle du vecteur, l'Aleurode *Bemisia tabaci* en même temps que sur les autres vecteurs d'autres viroses (Pucerons).

III- Conclusion

L'adaptation des règles de décision du programme QUALITOM au contexte réunionnais doit permettre de mettre au point un itinéraire technique performant visant à minimiser les coûts et l'emploi d'intrants. L'expérimentation menée en 1997 a permis de retenir les aspects qui nous semblent les plus adaptés au contexte local pour proposer un itinéraire technique qui est encore à compléter, à améliorer et à tester avant d'être proposé aux agriculteurs.

PUBLICATIONS EN 1997

VILTARD C., 1996 : Construction et évaluation d'un itinéraire technique pour cultiver la tomate de plein champ de qualité avec des coûts limités et en respectant l'environnement dans le contexte de l'île de la Réunion. Mémoire de DESS " Gestion des systèmes agro-sylvo-pastoraux en zones tropicales" , Université de Paris XII Val de Marne, 72 p + annexes.

STAGIAIRES RECUS EN 1997

- Christophe VILTARD : DESS Université de Paris Val de Marne, du 1/03 au 31/08/97.
- Fabien FOURNEL : 1ère année BTS au LEGTA de Sainte Livrade, du 16/06 au 22/08/97.

MISSIONS IMPORTANTES RECUES EN 1997

Phillipe BUSSIERES , Chercheur INRA-ECHO Avignon , coordonnateur scientifique du Projet QUALITOM, du 16/05 au 21/05/97.

Projet 941

**Inventaire des ennemis des cultures
et protection des plantes**

Operation 94103 - Lutte contre les bactérioses économiquement importantes des cultures maraîchères

Chercheur : J. LUISETTI
Doctorant : S. POUSSIER
Technicien : J.J. CHÉRON

I. La lutte contre le flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*)

Le flétrissement bactérien est considéré comme la maladie bactérienne la plus importante qui affecte les productions végétales. Elle est en effet très largement répandue puisqu'elle concerne toutes les zones tropicales et subtropicales, quel que soit le continent. Elle affecte aussi les pays circumméditerranéens (Portugal, Espagne; Italie, Algérie, Maroc, Grèce, Egypte, Israël ...) et depuis quelques années, ceux de l'Europe du Nord-Ouest (Angleterre, France et Pays-Bas).

La gamme de plantes sur lesquelles la bactérie peut se manifester couvre 55 familles botaniques, incluant des espèces économiquement importantes comme la pomme de terre, la tomate, l'aubergine, le poivron ou le tabac, mais aussi les bananiers et l'arachide.

La bactérie responsable, *Ralstonia solanacearum*, présente sur les cinq continents, montre une grande variabilité qui se manifeste par l'existence de 5 biovars basés sur l'activité métabolique et de 5 races liées au pouvoir pathogène et à la gamme d'hôtes. Ces variants peuvent coexister dans une même zone géographique et parfois dans une même parcelle.

Cette situation se retrouve à la Réunion où l'on observe la présence de 3 biovars et de 2 races qui sont capables d'infecter une vingtaine d'espèces botaniques dont en particulier les solanacées habituelles (pomme de terre, tomate, aubergine, poivron, ...) et quelques plantes locales comme le géranium rosat et l'anthurium. Le flétrissement bactérien, à la Réunion, relève essentiellement de la race 1 et du biovar 3 pour ce qui concerne la plupart des productions de basse altitude (moins de 1000 m), et de la race 3 (alors biovar 2) pour les cultures de pomme de terre dans les Hauts de l'île. Le biovar 1, appartenant également à la race 1, est aussi parfois isolé dans certaines zones de basse altitude de l'Ouest ou du Sud de l'île. Ces constatations laisseraient supposer que la température est le facteur discriminant de la présence de l'une ou l'autre race et qu'en l'occurrence les sols des "Bas" ne portent que le biovar 3 ou ponctuellement le biovar 1 et ceux des "Hauts", que le biovar 2. Cependant, quelques exceptions observées : des souches de biovar 2 isolées en basse altitude de tomate cultivées "hors-sol" ou plus rarement de plein champ, bousculent quelque peu cette hypothèse.

Comme la lutte chimique est quasiment inopérante, les possibilités de protection contre le flétrissement bactérien reposent sur l'application de mesures prophylactiques associée à l'utilisation de cultivars résistants ou tolérants.

I.1. Les objectifs

L'action que nous menons sur le flétrissement bactérien à la Réunion vise essentiellement à renforcer l'efficacité des mesures prophylactiques applicables. Elle ne néglige pas pour autant l'intérêt de disposer de matériel végétal résistant ou tolérant.

Ce qui implique, dans les deux cas, de bien connaître les populations pathogènes concernées, au plan tant qualitatif (quels variants?) que quantitatif (quel niveau d'inoculum?) pour évaluer les risques et adapter les mesures.

Un premier objectif est de caractériser les populations réunionnaises de *Ralstonia solanacearum* et d'en étudier différents aspects de la variabilité (profils métaboliques, pouvoir pathogène). Toutes les connaissances épidémiologiques n'ont de valeur, et les méthodes de lutte, d'efficacité que si elles intègrent la diversité des

populations du pathogène. De plus, la connaissance des particularités attachées aux populations locales est une garantie efficace en cas de risque d'introduction de populations étrangères.

Un second objectif est de doter le laboratoire d'outils d'identification et de détection de la bactérie et des variants présents dans l'île. Les méthodes moléculaires dont chacun s'accorde à dire qu'elles sont efficaces de par leur spécificité et leur rapidité, sont, bien entendu, privilégiées.

Si les outils moléculaires à mettre au point apparaissent les plus aptes à résoudre le problème d'ordre écologique que nous nous posons : cohabitation des trois biovars dans un même sol de l'île ou exclusion, il est évident qu'ils ne pourront être effectifs qu'après un délai de mise au point. C'est donc une approche plus classique, basée sur l'utilisation de bactéries marquées et faisant appel à la technique d'isolement de la bactérie que nous avons retenue dans cette première étape. Elle doit permettre non seulement de répondre à la question de la cohabitation des biovars mais également de fournir des références pour l'évaluation des outils moléculaires dans la détection de *R. solanacearum* et la quantification des populations présentes dans les divers réservoirs d'inoculum.

Enfin, comme il est exclu de négliger le rôle de la plante dans le développement de la maladie, la recherche, parmi les créations mondiales, de cultivars résistants ou tolérants et adaptés aux conditions locales, reste une préoccupation permanente.

1.2. Les expérimentations

1.2.1. La diversité phénotypique de *Ralstonia solanacearum*

218 souches de *Ralstonia solanacearum* viennent d'être caractérisées selon la méthodologie "BIOLOG". La majorité (plus de 140 souches) est originaire de la Réunion et couvre la plupart des cultures et des zones concernées par le flétrissement. Le reste constitue un échantillonnage souhaité représentatif des populations présentes sur les cinq continents.

Une classification ascendante hiérarchique élaborée avec le logiciel "STATLAB" conduit alors à séparer les 218 souches en 6 groupes significativement différents. Le premier groupe comprend essentiellement des souches du biovar 3 (37) et quelques-unes de biovar 1 (6). Le second inclut environ la moitié des souches de biovar 2 (35) ainsi que quelques souches de biovar 1 (5) ou de biovar 3 (2). Le groupe 3 est composé de souches pour moitié de biovar 1 et pour moitié de biovar 2. Le groupe 4 ne comprend que 12 souches mais intègre les trois biovars. Le groupe 5 est riche de 64 souches appartenant toutes au biovar 3, comme d'ailleurs la seule souche contribuant au groupe 6.

Le groupe 6 se distingue du groupe 1 - ils intègrent tous les deux essentiellement des souches de biovar 3 - par une origine presque exclusivement africaine (essentiellement réunionnaise) et excluant toutes les souches originaires du continent américain qui se retrouvent dans le groupe 1. De plus, les souches du groupe 6 montrent une activité métabolique globalement plus intense que celle relative au groupe 1.

D'une manière similaire, le groupe 3 ne comprend aucune souche de biovar 2 provenant du continent américain ; celles-ci se retrouvent pour la plupart dans le groupe 2.

Enfin, la diversité métabolique au sein des souches de biovar 1 apparaît la moins large, leur grande majorité se rassemblant dans le groupe 3 où cohabitent des origines africaines et américaines.

Il est regrettable que nous ne disposions pas de suffisamment de souches d'origine africaine (autre que réunionnaise) ou d'origine asiatique. Nous avons cependant travaillé sur ce qui était disponible dans les collections ouvertes.

1.2.2. La diversité génétique de *Ralstonia solanacearum*

L'approche engagée en 1996 et portant sur la zone 16 S et l'ITS1 de l'opéron ribosomique a été abandonnée au profit de l'exploration de la zone des gènes *hrp*. Les résultats sur le 16S et sur l'ITS1, bien que positifs - une amplification par PCR, spécifique de *R. solanacearum* a pu être obtenue avec plusieurs couples d'amorces - manquaient de reproductibilité, alors qu'en revanche l'amplification d'une première séquence *hrp* s'est révélée pleine de promesses.

L'ensemble de la zone *hrp* (28 kb) a été explorée avec une douzaine de couples d'amorces. La plupart a conduit à une amplification dont les conditions ont été assez aisées à définir et qui s'est révélée spécifique de l'espèce *Ralstonia solanacearum*. Il reste cependant à confirmer qu'aucune séquence nucléaire de deux bactéries pathogènes proches de cette espèce (*Pseudomonas syzygii* et *P. celebensis*), mais très localisées dans le Sud-Est asiatique, ne peut être amplifiée dans les mêmes conditions, ce qui est fort probable d'ailleurs.

Six des amplifiats ont été digérés séparément par une douzaine d'enzymes de restriction et analysés alors par électrophorèse. Les profils ainsi obtenus apparaissaient capables de séparer les biovars et, ce qui a été confirmé par la suite certaines origines géographiques.

Le bilan de ce travail réalisé par le doctorant et avec l'aide d'une stagiaire de D.E.S.S. est très positif : (i) on dispose de plusieurs couples d'amorces permettant une amplification spécifique dans la zone *hrp*, (ii) en couplant amplification par PCR et analyse du polymorphisme des longueurs des fragments de restriction

(RFLP), on peut identifier à coup sûr chacun des trois biovars présents à la Réunion et (iii) il est aussi possible par la même approche de séparer certaines origines de souches du biovar 1 et aussi de biovar 3.

L'objectif est pour 1998 de développer des méthodes de détection des trois biovars basées sur ces résultats afin de pouvoir les utiliser dans la recherche et la quantification des populations de *R. solanacearum* au sein des réservoirs potentiels.

La prolongation immédiate du travail réalisé a été une étude de la diversité génétique de l'espèce *R. solanacearum* faite sur 117 souches de toutes provenances géographiques. Une classification des souches basée sur leurs profils PCR-RFLP et élaborée avec le logiciel STATLAB conduit à séparer 8 groupes. La diversité chez le biovar 1 apparaît très grande puisque ses souches participent à 5 des 8 groupes. Les souches réunionnaises forment un groupe à part. Le biovar 3 est plus homogène bien qu'éclaté en 2 groupes et 5 sous-groupes. Enfin, le biovar 2 constitue un seul groupe homogène quelle que soit l'origine géographique des souches.

1.2.3. Étude de l'interaction entre les biovars

Le biovar 2 ne se manifestant, sauf quelques rares exceptions, que dans les " Hauts " de l'île, on était en droit de penser que la température est le facteur impliqué dans la répartition des biovars 2 et 3. Or, comme il a été démontré que les souches de biovar 2 étaient capables d'induire le flétrissement de tomates cultivées aussi bien à 30°C qu'à 20°C, l'hypothèse ne tient plus.

De plus, il est apparu à la suite de plusieurs expérimentations que les sols des " Bas " n'avaient aucun effet inhibiteur de la présence de souches de biovar 2 et / ou de leur manifestation pathogène.

Une autre des hypothèses envisageables est une réelle absence du biovar 2 des sols des " Bas " ce qui paraît peu plausible compte tenu de sa présence dans les " Hauts " et de l'existence du flux abondant et quasi permanent d'eaux pluviales en provenance des hauteurs.

Si l'on admet donc que le biovar 2 est présent dans les sols des " Bas ", il faut essayer de comprendre pourquoi il ne peut se manifester sur les nombreuses plantes sensibles. L'hypothèse d'une insuffisance de compétitivité des souches de biovar 2 en présence de celles du biovar 3, qui se traduirait par une faible fréquence d'infection est alors retenue.

Des expérimentations sur de jeunes tomates sensibles (variété Roma) ont été mises en place, en conditions contrôlées (chambre climatique) et avec des souches marquées par une résistance aux antibiotiques (pour suivre avec plus de précision leur multiplication dans la plante) pour analyser l'issue, en termes de populations dans les tissus et de taux de flétrissement, d'inoculations associant les deux biovars dans des proportions variables.

Les résultats des premières séries d'inoculations confirment la moindre compétitivité de la souche de biovar 2 lorsque le rapport des concentrations initiales est 1/1, ce qui se traduit le plus souvent par un niveau de populations dans les tissus flétris inférieur de 1 à 2 puissances à celui afférant au biovar 3. Lorsque le rapport des concentrations initiales est en faveur du biovar 2 (10/1), la fréquence des plantes où les populations de biovar 2 prédominent augmente, sans toutefois atteindre la valeur 1. À l'opposé, dès que le rapport devient favorable au biovar 3 (1/10), les populations de biovar 2 sont toujours minoritaires et ne représentent que le millième ou le dix millième de celles relatives au biovar 3. Il apparaît donc que le rapport des populations dans les tissus flétris dépend du rapport des concentrations initiales mais aussi de la valeur de la concentration initiale la plus élevée. Ces résultats qui méritent d'être affinés et complétés par la mise en jeu du troisième biovar (biovar 1) sont de nature à expliquer la quasi absence de manifestations du biovar 2 et à justifier les rares cas de son isolement dans les " Bas ". Ils montrent l'intérêt d'une étude approfondie de la structure des populations de *R. solanacearum* dans les sols de la Réunion et la nécessité de disposer d'outils appropriés, ce qui notre objectif à court terme.

1.2.4. Étude de la sensibilité de variétés de tomate au flétrissement

Une expérimentation placée dans le cadre d'un essai à l'échelle internationale piloté par l'A.V.R.D.C. et destiné à déterminer la sensibilité, sous diverses conditions naturelles d'expression du flétrissement bactérien, d'une gamme de variétés de tomate, a été mise en place en fin 1996 et menée à son terme jusque mars 1997. Parmi les 36 variétés, dont certaines sous numéros, 13 se sont révélées localement résistantes à la maladie et plus précisément aux populations de biovar 3 présentes dans le sol. L'analyse des résultats des différents pays participant à cet essai montrent que si une large majorité des variétés se comporte de manière semblable quelle que soit la localisation géographique de l'expérimentation, certaines manifestent un comportement opposé en fonction de la localisation, ce qui souligne l'extrême importance d'une connaissance parfaite de la nature des populations présentes dans les sols. Cette synthèse a été présentée par le coordinateur de l'essai lors du Symposium international sur le flétrissement bactérien qui s'est tenu en juin dernier en Guadeloupe.

PUBLICATIONS EN 1997

NICOLE J. F., CHERON J.J., GIRARD J.C. and LUISETTI J., 1997. A tentative explanation of the distribution of biovar 2 and biovar 3 of *Ralstonia solanacearum* agents of bacterial wilt in Reunion Island. Second International Bacterial wilt symposium, Guadeloupe, 21-27 Juin 1997.

STAGIAIRES REÇUS EN 1997

Peggy VANDEWALLE . D.E.S.S. en Génie cellulaire et moléculaire. Université des Sciences et Technologies de Lille. " Analyse de la variabilité par PCR-RFLP des gènes *hrp* de *Ralstonia solanacearum*. Recherche d'outils de détection spécifiques des populations de *Ralstonia solanacearum* à la Réunion ".

Karine LEROUVILLOIS . Dilôme d'Ingénieur . E.N.I.T.A. de Clermont-Ferrand . " Contribution à la mise au point d'une méthode de quantification des populations de *Ralstonia solanacearum*, agent du flétrissement bactérien, dans le sol ".

AG 177756

PROJET N° 941
Opération N° 94104

OPERATION N° 94104 - Lutte contre les viroses des cultures horticoles

Chercheur : M. GRISONI
Technicien : C. RIVIERE

I - Etude des viroses de l'ail

1.1. Objectif général de l'étude

Le programme d'étude des viroses de l'ail se propose de préciser quels sont les principaux virus pathogènes de l'ail à la Réunion et les conditions de leur dissémination au champ. A moyen terme, ces travaux doivent permettre de définir les modalités de mise en place d'une filière de production de semences assainies à partir des lignées locales régénérées en 1992.

Les premiers essais conduits à partir de 1995 ont indiqué la co-infection de la majorité des lignées d'ails de la collection réunionnaise par au moins deux potyvirus pathogènes : l'OYDV (Onion Yellow Dwarf Virus) et le LYSV (Leek Yellow Stripe Virus). Ils ont également confirmé la forte incidence de la proximité d'ail virosé sur le taux de recontamination (par l'OYDV surtout) de parcelles plantées avec des caïeux certifiés de la variété Morasol.

1.2. Résultats obtenus en 1997

Les essais prévus en 1997 pour préciser la dynamique spatio-temporelle des recontaminations de l'ail par les Potyvirus ont dû être annulés en raison de la mauvaise qualité du matériel végétal expérimental introduit (faible levée et faible taux de caïeux sains). Aussi les travaux ont-ils été ré-orientés sur la caractérisation des isolats de LYSV présents sur l'île (Stage de DESS de H. BENEZET).

1.2.1. Variabilité génomique de différents isolats de LYSV

A partir des séquences nucléotidiques disponibles dans la littérature pour plusieurs isolats de LYSV, différentes amorces et un protocole d'amplification par RT-PCR de l'extrémité 3' du génome ont été mis au point. Brièvement, il repose sur l'extraction de l'ARN total des plantes infectées, la reverse transcription à l'aide d'une amorce spécifique du LYSV, homologue d'un segment de la région 3' non codante du génome. Une première amplification est alors réalisée avec une amorce spécifique du groupe des Potyvirus. Les multiples fragments d'ADN obtenus sont ensuite réamplifiés (nested-PCR) avec un couple d'amorces encadrant une portion du gène de capsid du LYSV. Le fragment unique d'ADN ainsi obtenu a ensuite été séquencé (Société Genome Express, Grenoble) pour 5 isolats locaux, et un isolat introduit de la Drôme (Top Semences).

Le tableau 1 indique les pourcentages d'homologie des séquences partielles de la protéine de capsid pour neuf isolats de LYSV.

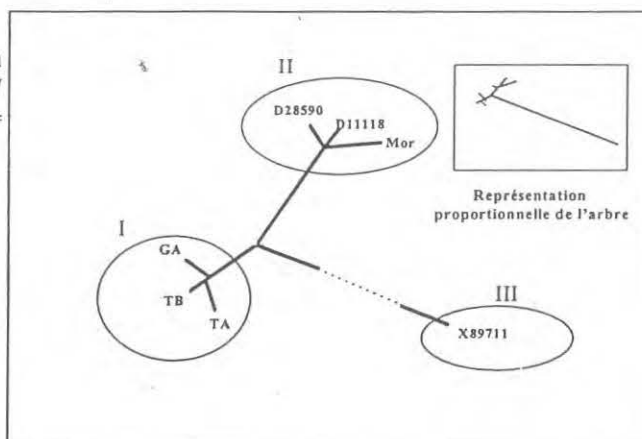
Tableau 1 : Pourcentages d'homologie entre les fragments de 504 nt (bas du tableau) et 168 aa (haut du tableau) de la protéine de capsid pour 9 isolats de LYSV.

isolat	hôte	Origine géogr.	Gros l'ail	Ail rouge	Ti l'ail	Ti bleu	Afrique	D 28590	D 11118	Morasur	X 89711
Gros l'Ail	ail	Réunion		98.8	98.8	98.8	98.8	95.2	95.2	94.6	84.5
Ail Rouge	ail	Réunion	99.2		100	100	100	96.4	97.0	95.8	84.5
Ti l'Ail	ail	Réunion	99.2	100		100	100	96.4	96.4	95.8	84.5
Ti Bleu	ail	Réunion	98.8	99.2	99.4		100	96.4	96.4	95.8	84.5
Afrique	ail	Réunion	98.8	99.4	99.2	100		96.4	96.4	95.8	84.5
D28590 *	ail	Japon	94.2	93.9	93.9	94	94		98.8	98.2	83.9
D11118 *	ail	Japon	94.0	94.4	94.4	94.0	94.2	99.0		98.2	83.9
Morasur	ail	Drôme	94.0	93.9	93.9	94.4	94.2	97.8	97.4		83.9
X89711 *	?	?	80.0	80.0	80.0	80.4	80.4	79.0	78.8	79.8	

* séquences issues de la base Genbank

Les isolats réunionnais apparaissent homogènes entre eux (groupe I) et diffèrent sensiblement de deux isolats japonais décrit dans la littérature et de l'isolat introduit de la Drôme (groupe II). La séquence X89711 (groupe III) apparaît fortement différente de celles de tous les autres isolats de LYSV infectant l'ail. L'analyse phylogénétique de ces séquences (figure 1) confirme leur ségrégation en trois groupes.

Figure 1 : Arbre phylogénétique construit à partir des séquences en acides aminés de 7 isolats différents de LYSV. (TA = Ti l'Ail; TB = Ti Bleu, GA = Gros Ail, Mor = Morasur)



D'autre part, la présence du motif DAG, impliqué dans la transmission par puceron de nombreux Potyvirus, a été observée pour tous les isolats séquencés. Ce résultat écarte donc l'hypothèse de l'absence de ce motif sur la protéine de capsid du LYSV comme cause du très faible taux de dissémination observé au champ pour le LYSV par rapport à l'OYDV.

1.2.2 Transmissibilité du complexe viral de la lignée Vacoa.

Différents tests de transmission mécanique et par puceron vecteur du complexe viral hébergé par la lignée Vacoa (OYDV, LYSV et GCLV) ont été effectués. Ces inoculations initialement prévues sur une lignée sensible à ces trois virus (Morasur) ont dû être effectués sur la lignée locale assainie Ail Rouge. Les principaux résultats sont rassemblés dans le tableau 2 suivant.

Tableau 2 : Proportions de plants symptomatiques ou infectés après différents types d'inoculation par le complexe viral hébergé par la lignée Vacoa.

Plante cible	Type d'inoculation	Symptômes de mosaïque	Détection ELISA		
			Potyvirus	OYDV	LYSV
Ail Rouge	mécanique	9/9	9/9	9/9	0/9
Poireau (Carantan)	mécanique	0/10	1/10	1/10	1/10
Oignon (Red creole)	mécanique	0/10	3/10	2/10	2/10
Ail Rouge	<i>Aphis gossypii</i> (5)	1/8	1/8	1/8	0/8
Ail Rouge	<i>Myzus persicae</i> (5)	2/6	3/6	3/6	0/6

L'OYDV et le LYSV "Vacoa" ont été faiblement transmis à leur hôte spécifique (respectivement l'oignon et le poireau). En revanche 100% de transmission a été obtenu lors d'inoculations mécaniques d'ail Vacoa sur Ail rouge pour l'OYDV. Ce fait tend à justifier la distinction proposée par certains auteurs entre isolats d'OYDV ou de LYSV en fonction leur espèce hôte. De façon intéressante, la variété Ail rouge paraît présenter un niveau élevé de résistance à l'inoculation mécanique ou par vecteur au LYSV. Ce résultat, déjà observé au champ, devra néanmoins être validé par l'inoculation d'autres isolats de LYSV (employés seuls et non en mélange).

D'autre part, la comparaison des titres antigéniques en LYSV et OYDV (sérum polyclonaux commercialisés par Bioreba) suggère une moindre multiplication de ces deux virus dans la lignée Ti Bleu par rapport aux lignées Vacoa ou ail Rouge.

La confirmation de ces observations pourrait ouvrir des perspectives intéressantes d'amélioration de la lutte contre les Potyvirus de l'ail par l'emploi de sources de résistance variétale.

II - Multiplication de semences d'ail assainies

La multiplication sous abri des lignées assainies (Vacoa Fontaine et Ail Rouge) s'est poursuivie en 1997. Un indexage ELISA réalisé sur environ 25% des caieux plantés confirme l'absence de contamination par les Potyvirus. Pour l'ail Rouge, environ 1300 bulbes ont été récoltés et des essais pourront être effectués en 1998 pour comparer les performances agronomiques des six somaclones en collection. Une partie de ce matériel a été envoyée au CIRAD-Montpellier. Il y est utilisé à la mise au point d'une technique d'amplification *in vitro* des semences d'ail. Cette technique originale permettra, une fois maîtrisée, un accroissement considérable de la vitesse d'obtention de semences. La multiplication de la lignée Vacoa, dotée d'un nombre réduit de caieux et pour laquelle nous rencontrons des difficultés, pourrait également être favorisée par l'emploi de cette technique.

III - Etude des viroses du vanillier

Les producteurs de vanille de la Réunion se sont engagés depuis 1994 dans un ambitieux programme d'intensification. Celle-ci s'accompagne dans plusieurs ombrières, de graves problèmes de dépérissements. Les examens virologiques ont révélés qu'au moins deux virus infectent les lianes cultivées sur l'île (le CyMV et un Potyvirus). Afin d'asseoir l'intensification de la vanilliculture sur une base solide, il est nécessaire de disposer de matériel végétal d'une qualité sanitaire optimale, c'est à dire, en particulier, indemne de virus.

Fin 1997 une convention a été signée (pour trois ans) entre PROVANILLE et le CIRAD sur l'étude des virus des vanilliers. Ses objectifs visent: l'optimisation des techniques de détection, la caractérisation des souches présentes sur l'île, la compréhension de leur épidémiologie et l'établissement de têtes de lignées indemnes de viroses.

III.1 Technique de détection sérologique

Les sérums disponibles dans le commerce (Agdia) pour la détection par ELISA du CYMV et des Potyvirus ont été évalués sur le matériel de la Réunion. Ils permettent la détection spécifique et sensible des deux types de virus. Toutefois les Potyvirus associés aux symptômes de mosaïques, paraissent inégalement répartis dans le végétal. Un protocole particulier de prélèvement et d'indexage de routine a donc été élaboré en collaboration avec le CRIP et PROVANILLE. Il est actuellement appliqué à l'indexage des ombrières de l'île. La cartographie sanitaire de ces ombrières fournira des informations épidémiologiques intéressantes et surtout facilitera la sélection de têtes de lignées indemnes.

III.2 Mise au point d'outils de caractérisation moléculaire

Un protocole d'amplification RT-PCR a pu être adapté pour l'étude des régions des génomes viraux codant pour la capsid protéique. Il a été validé pour deux isolats de CyMV et trois isolats de Potyvirus. Pour les potyvirus en particulier, l'extrémité 3' du gène de capsid protéique (402 nt) a été séquencée. Les résultats obtenus suggèrent l'existence d'au moins deux types distincts de Potyvirus infectant les vanilliers à la Réunion (figure 2). En effet les fragments séquencés ne présentent que 78% d'homologie entre les deux types observés (JMLEG et DeCB-AREX). D'autre part, les séquences de ces deux types diffèrent sensiblement de celle du WMMV-II associé au Vanilla Necrotic Virus dans le Pacifique (74 à 81% d'homologie des séquences nucléotidiques). Ces travaux doivent être poursuivis sur une gamme plus large de souches locales, représentative de la variabilité biologique observée dans les ombrières (différents types de mosaïques, dépérissements,...)

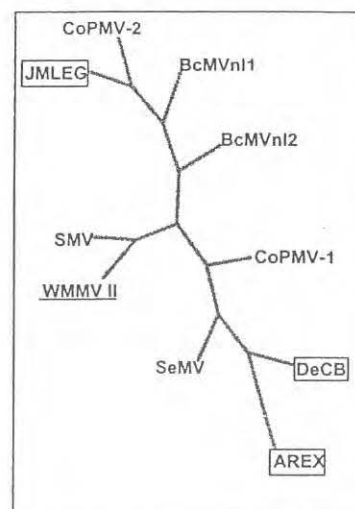


Figure 2 : Dendrogramme phylogénétique (Phyllip-Parsimony) réalisé à partir des 133 aa N-terminaux de différents Potyvirus proches de ceux isolés de vanilliers à la Réunion (encadrés).

PUBLICATIONS EN 1997

Grisoni M., B. Côme & F. Nany (1997). Projet de relance de la vanilliculture dans la région du Sava. Compte rendu de mission à Madagascar du 05 au 18 mai 1997. Cirad, Saint Pierre, 11p + annexes.

STAGIAIRE RECUS EN 1997

Hélène BENEZET, Université des Sciences Biologiques de Pau et des Pays de l'Adour, avril-septembre 1997.

Mémoire de DESS : Contribution à l'étude de deux Potyvirus infectant les allium à l'île de la Réunion (OYDV: Onion Yellow Dwarf Virus et LYSV: Leek Yellow Stripe Virus), Septembre 1997, 42 pages.

AG177757

PROJET N° 941
Opération N° 94105

OPERATION N° 94105 -
Lutte contre les insectes ravageurs des cultures maraîchères

INVENTAIRE DES ENNEMIS DES CULTURES ET PROTECTION DES PLANTES

CHERCHEURS : J.F. VAYSSIERES
VAT ASSOCIE

ACTION 1 : INVENTAIRE DES RAVAGEURS ET AUXILIAIRES
(INSECTES ET ACARIENS)

Cette action s'est déroulée sur une année complète de janvier 97 à janvier 98.

La méthode utilisée visait à visiter régulièrement des exploitations de maraîchers (plein champ et serristes) et à échantillonner les observations et prélèvements.

Pour les maraîchers de plein champ, il était nécessaire de suivre des agriculteurs représentatifs des principales cultures dans les principales zones agro-écologiques de l'île.

Des élevages se poursuivent actuellement en vue de récolter les parasitoïdes inféodés à certains ravageurs.

Les collectes ont permis de rassembler un matériel conséquent : un premier envoi a été fait au bout des six premiers mois d'enquête et le second devrait être réalisé courant février 98.

L'analyse de la hiérarchisation des espèces de ravageurs est en cours et la synthèse des différents résultats sera effective dès que les principales déterminations nous seront renvoyées.

D'ores et déjà nous pouvons mettre en valeur les points suivants :

- ♦ l'entomofaune associée aux cultures maraîchères est d'une grande richesse tant sur le plan qualitatif que sur le plan quantitatif
- ♦ certains prédateurs et parasitoïdes utilisés en métropole à des fins de contrôle biologique existent déjà à la Réunion
- ♦ une collection de référence pour les principaux ravageurs et auxiliaires est en cours de constitution
- ♦ une photothèque également afin de pouvoir réaliser ultérieurement un petit guide de reconnaissance des principaux ravageurs et auxiliaires
- ♦ l'utilisation des pesticides pourrait être avantageusement rationalisée en général
- ♦ un appui technique est fortement demandé par la profession et spécialement dans le domaine de la protection des cultures
- ♦ l'accueil a toujours été très chaleureux et il faut le souligner tout particulièrement .

ACTION 2 : RELATIONS INSECTES-PLANTES CHEZ LES DACINI DES CUCURBITACEES

Les diptères *Tephritidae* *Dacini* (mouches des fruits sensu lato ou encore mouches des légumes-fruits sensu stricto) qui occasionnent des dégâts particulièrement importants aux cultures maraîchères de la famille des cucurbitacées sont au nombre de trois :

- ♦ *Bactrocera cucurbitae*, relativement cosmopolite dans les zones tropicales humides de l'océan indien et du pacifique, et qui reste inféodée principalement à cette famille de plantes la Réunion
- ♦ *Dacus demmerezii*, espèce endémique des Mascareignes
- ♦ *Dacus ciliatus*, espèce panéthiopienne et présente dans l'océan indien de l'Afrique du Sud à la péninsule indienne y compris les Mascareignes.

Les dégâts occasionnés sur les cucurbitacées par ces redoutables ravageurs dépassent 75% sur des parcelles non traitées et peuvent même aller jusqu'à 50% sur des parcelles traitées.

Les méthodes de lutte intégrée restent perfectibles pour les deux premières espèces dont les mâles sont spécifiquement piégeables avec un attractif paraphéromonal le cueure. Un piégeage efficace de la troisième espèce reste à trouver et cela est d'autant plus important que l'impact de ce ravageur est considérable en Afrique et tout particulièrement en Afrique de l'ouest...

La connaissance de la bio-écologie de ces mouches est donc fondamentale pour pouvoir envisager une optimisation des opérations de lutte intégrée. Si les données sont relativement abondantes pour *B. cucurbitae*, il n'en va pas de même pour les deux autres espèces...C'est pourquoi la première étape de notre démarche a été d'éclaircir cette zone d'ombre et globalement pour les trois espèces :

- ♦ de mettre en évidence la gamme de plantes-hôtes à la Réunion, en l'occurrence une quinzaine d'espèces de cucurbitacées: 12 sont cultivées et 3 « sauvages » (en fait des plantes exotiques naturalisées)
- ♦ de les piéger avec différents attractifs et à différentes altitudes tout en collectant des fruits-hôtes piqués et en élevant leurs larves (dans les fruits-hôtes) au laboratoire
- ♦ de déterminer le stade phénologique sensible du fruit-hôte : ce sont en général les très jeunes fruits qui sont piqués par les femelles
- ♦ de suivre l'importance de leurs dégâts sur des parcelles non traitées (en station et point d'essai)
- ♦ de calculer leurs durées de développement à températures constantes
- ♦ de déterminer leurs longévités
- ♦ de calculer leurs fécondités et fertilités
- ♦ de différencier les différents stades de maturité sexuelle des adultes
- ♦ d'observer leurs rythmes circadiens.

La deuxième étape qui devrait prochainement débiter sera l'étude des différents stimuli essentiellement visuels et olfactifs pour *D. ciliatus* uniquement. Le retard dans l'étude de cette composante est dû au retard de livraison du matériel.

AG177788

opel 349
1038 1-3)
SVR

OPERATION N° : 94114 : INVENTAIRE DES RAVAGEURS ET AUXILIAIRES DU LITCHI

CHERCHEUR : J.F. VAYSSIERES

L'action entreprise durant le second semestre 96 a été poursuivie et amplifiée durant le second semestre 97.

L'inventaire de l'entomocoenose (ravageurs et auxiliaires) est complété cette année par de nouvelles déterminations.

La hiérarchisation des principaux ravageurs et auxiliaires reste la même et le ravageur-cible le plus important est toujours la tordeuse carpophage, *Cryptophloeobia peltastica*. Globalement nous pouvons confirmer en 1997 la faible incidence relative des ravageurs sur le litchi mise en évidence en 1996 (cf rapports de S. QUILICI et de J.F. VAYSSIERES).

Une méthode de lutte par piégeage avec un attractif sexuel mis au point par l'INRA, a été testée dans un verger du Sud contre la tordeuse carpophage. Les résultats de capture des mâles ont une portée assez limitée pour le moment. Nous étudions avec l'INRA les possibilités d'amélioration de ce type de piégeage.

STAGIAIRES RECUS EN 1997

Mathieu COUBES : reçu à St Pierre du 8 mai au 30 novembre

Sujet : quelques données sur les paramètres démographiques des *Dacini* (Diptères *Tephritidae*) inféodés aux cucurbitacées et sur les stades phénologiques préférentiels des fruits attaqués.

Isabelle BOURDAS : reçue à St Pierre du 4 juillet au 24 décembre

Sujet : suite de l'inventaire des insectes ravageurs et auxiliaires du litchi ; test d'une méthode de lutte contre la tordeuse carpophage.

Yann SCHORCH : reçu à St Denis du 19 juillet au 12 décembre

Sujet : analyse des principaux composés volatils de cucurbitacées cultivées à la Réunion ; enquête sur les principaux insectes ravageurs et auxiliaires des cultures maraîchères autour de St Denis.

FILIERE

PLANTES

AROMATIQUES

FILIERE PLANTES AROMATIQUES

Liste des PROJETS et OPERATIONS ~ 1997

PROJETS	OPERATIONS	TITRES	RESPONSABLES	TEMPS
421		Amélioration de la production des plantes aromatiques	E. ODOUX	
	42101	Intensification de la culture du vanillier	F. LE BELLEC	50 %
* 951		Transformation et qualité des productions agricoles de la Réunion	E. ODOUX	
	95103	Etude de la maturation aromatique de la vanille	E. ODOUX	90 %

* Les projets dont le numéro commence par 9 sont des projets intéressant plusieurs filières. De ce fait, les opérations sont réparties selon la filière à laquelle elles se rattachent.

Projet 421

**Amélioration de la production
des plantes aromatiques**

A 6177753

→ soustraire
8-22
SVP

PROJET N° 421
Opération N° 42101

Opérations N° 42101- 102 (partie agronomie)
Intensification de la culture du vanillier

Responsable : Fabrice LE BELLEC

*Techniciens : Aïdée LOMBARD
Jean-Patrice LEBLE*

Avant propos : Les actions de recherche prévues lors de la programmation 1997 n'ont pu être réalisées qu'en partie ; le financement lié n'ayant été acquis qu'en fin d'année (12/97).

I. Mise au point de substrats de culture hors sol

Cet essai vise à comparer 9 substrats de culture différents. Les résultats de 1997 confirment ceux des années précédentes et montrent clairement l'importance de la matière organique bien décomposée pour une bonne croissance et productivité du vanillier.

Trois substrats se démarquent :

I.1. Rendements en 1997 (témoin : pas de production)

1/3 scories + 2/3 bagasse + engrais retard (1.200 g/pied)
1/3 scories + 2/3 terreau portois (610 g/pied)
1/3 scories + 2/3 bagasse (360 g/pied)

I.2. Evolution du substrat et son influence sur le développement des lianes

Année 1 : Le développement végétatif a été, d'une manière générale, freiné par un substrat peu ou pas assez décomposé. Seules les lianes implantées dans le terreau portois y ont prospérer rapidement.

Année 2 : Le bon développement des lianes de vanille implantées dans le terreau portois a eu une répercussion directe sur la production dès n+2 : 219 g/pied. Les autres traitements ont produit très peu (entre 2 et 70 g/pied). Cependant, les lianes implantées dans la bagasse enrichie en engrais développent un potentiel végétatif intéressant.

Année 3 : Le bon développement dans la bagasse + engrais est confirmé par une production atteignant les 2.200 g pour certains pieds. L'engrais a certainement joué deux rôles : a) il a permis l'accélération de la décomposition de la bagasse. b) il a un effet notable sur la floraison (comparativement au traitement bagasse seule).

I.3. Evolution physique des substrats

Nous n'observons pas de réel problème de compactage des substrats (comme ceux observés chez les agriculteurs), sauf terreau portois en année 3. Cette bonne évolution s'explique peut-être par : a) la zone de

culture moins pluvieuse. b) l'addition au départ d'un matériel inerte (scorie) assurant un substrat léger. c) aucun traitement n'a reçu d'écume.

II. Multiplication végétative du vanillier

II.1. Multiplication intensive in vitro

Les activités vanille du laboratoire in vitro ont redémarré courant 1997 dans le but de produire un maximum de plantules en vue de mettre au point leur acclimatation. Tout ceci dans la perspective des activités futures du laboratoire.

II.2. Multiplication intensive in vivo par boutures courtes

Cet essai a pour objectif d'intensifier la multiplication du vanillier pour permettre de produire en grand nombre et plus rapidement des souches intéressantes. Différents types de boutures sont testés (2 ou 3 entre-nœuds, différents diamètres de liane, hormone de bouturage). L'essai est actuellement en cours, les résultats ne sont donc que partiels. Cependant, le nombre de jours moyen nécessaire au démarrage est de l'ordre de 66 jours, le taux de reprise (après 90 jours) est de 45 %. Ce taux est légèrement plus élevé (55%) pour des boutures dont le diamètre est supérieur à 0.5 cm et comportant 3 entre-nœuds. Une fois la bouture reprise, sa croissance est rapide : 10 cm par mois. Le meilleur traitement sera implanté au champ durant le premier trimestre 1998.

III. Mission importante reçue

Messieurs Herssens, Blaise et Viault du F.E.D. Madagascar nous ont rendu visite afin de finaliser le projet de coopération FED Madagascar/CIRAD Réunion - transfert de technologie - en matière de vanilliculture (Projet sur fonds STABEX).

Projet 951

**Transformation et qualité des
productions agricoles de la Réunion**

Opération N° 95103 -
Etude de la maturation aromatique de la vanille

Chercheur : E. ODOUX

*Techniciens : A. LOMBARD
J.P. LEBLE*

I- Traitement enzymatique sur gousse de vanille verte.

Cet aspect a pour le moment été abordé dans un but purement analytique, afin de pouvoir comparer les concentrations en vanilline, acide vanillique, acide 4-hydroxybenzoïque, et 4-hydroxybenzaldéhyde dans les gousses vertes de vanille. En effet, le CIRAD a mis en place en 1994 un essai agronomique visant à comparer l'incidence du substrat sur la croissance des lianes et sur l'induction de la floraison (voir opération 42101). Des différences très significatives ont pu être observées sur ces deux paramètres. Il semblait donc intéressant d'étudier l'impact du substrat sur la qualité aromatique de la vanille, et ce d'autant plus que plusieurs analyses ont montré des teneurs en vanilline nettement supérieures sur vanille préparée issue d'ombrière par rapport à celle issue de sous-bois.

La technique utilisée consiste à faire agir une β -glucosidase commerciale sur un broyat de vanille verte, afin d'hydrolyser les précurseurs glycosylés avant l'analyse chromatographique. Il faut néanmoins s'assurer que les gousses sont à maturité, c'est-à-dire à un stade où seule la proportion entre molécules aromatiques et précurseurs glycosylés est susceptible d'être modifiée par le processus naturel de maturation, lorsque la biosynthèse en précurseurs n'évolue plus. On mesure alors le potentiel en molécules aromatiques des gousses. L'analyse sur gousse verte plutôt que sur gousse préparée présente l'avantage, d'une part d'éviter une préparation longue et difficile sur de petites quantités de gousses, et d'autre part de se soustraire du biais que peut générer la préparation traditionnelle, mal maîtrisée en terme qualitatif.

Les concentrations^(a) des différents composés aromatiques étudiés à partir des gousses obtenues sur les ombrières CIRAD sont présentées dans le tableau suivant :

	vanilline	acide vanillique	acide 4-hydroxy benzoïque	4-hydroxy benzaldéhyde
T2 : scories engrais	3.1	0.13	0.05	0.24
T4 : terreau bagasse	3.3	0.18	0.05	0.20
T5 : terreau cryptoméria	4.0	0.18	0.06	0.22
T6 : terreau filaos	3.8	0.17	0.04	0.24
T7 : terreau portois	3.6	0.20	0.05	0.18
T8 : terreau pin	4.0	0.18	0.06	0.24
T9 : bagasse engrais	3.9	0.22	0.05	0.19

^(a) les concentrations sont exprimées en pourcentage de la matière sèche, et sont la valeur moyenne des traitements qui ont donné des gousses.

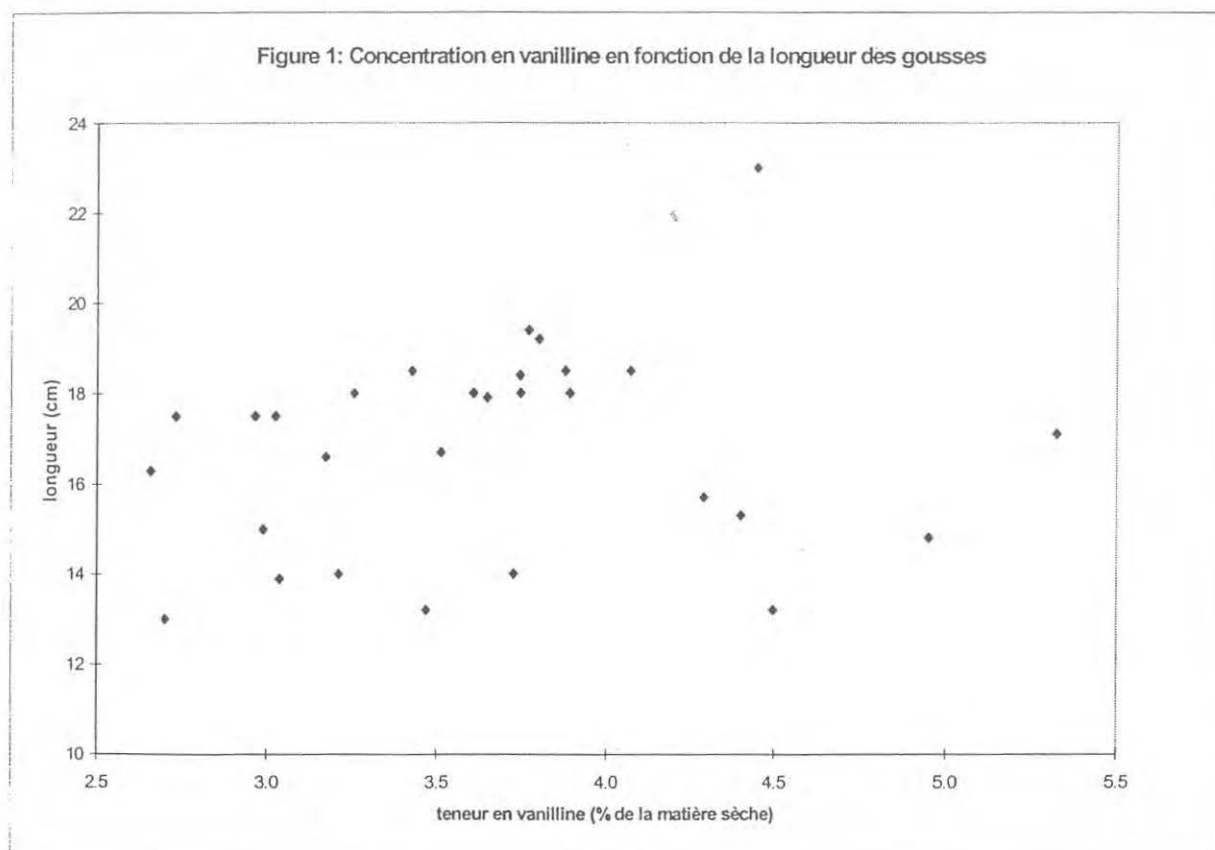
Une analyse statistique sur les résultats complets montre que la variabilité intra-traitements est au moins aussi importante que la variabilité inter-traitements, ce qui signifie que le substrat n'a pas d'incidence sur les concentrations des 4 composés aromatiques majoritaires de la vanille.

Il semble cependant exact que les vanilles de sous-bois montrent des concentrations sensiblement inférieures en vanilline et acide vanillique, comme en témoignent les résultats présentés ci-dessous :

	vanilline	acide vanillique	acide 4-hydroxy benzoïque	4-hydroxy benzaldéhyde
sous-bois	2.2	0.07	0.05	0.23

Les conditions analytiques sont rigoureusement identiques dans les deux cas. Il faut toutefois noter qu'un seul échantillon de vanille de sous-bois a été analysé, et qu'il serait intéressant d'étudier plusieurs lots de différentes origines géographique et/ou provenant de différents producteurs pour confirmer ce résultat. Quoiqu'il en soit, si différences il y a, celles-ci peuvent difficilement être attribuées à l'effet du substrat.

Enfin, cette technique a été utilisée pour vérifier une idée généralement admise dans le milieu professionnel de la vanille, selon laquelle il existerait une corrélation positive entre longueur des gousses et concentrations en vanilline. La figure suivante (figure 1), réalisée en analysant individuellement une trentaine de gousses prélevées au hasard dans un lot, montre qu'il n'en est rien.



II- Etude du procédé traditionnel d'obtention de la vanille noire.

Cette étude a pour objectif de mieux comprendre les phénomènes chimiques et biochimiques qui conduisent à la formation de l'arôme caractéristique de la vanille, afin de pouvoir proposer à terme une meilleure maîtrise et/ou une optimisation du procédé traditionnel de transformation. En effet, la bibliographie sur le sujet est très restreinte, et des analyses effectuées au CIRAD ont montré que le procédé ne permettait pas d'obtenir la libération totale des composés aromatiques par rapport au potentiel des gousses ; l'efficacité serait de l'ordre de 50 à 75 % selon les composés.

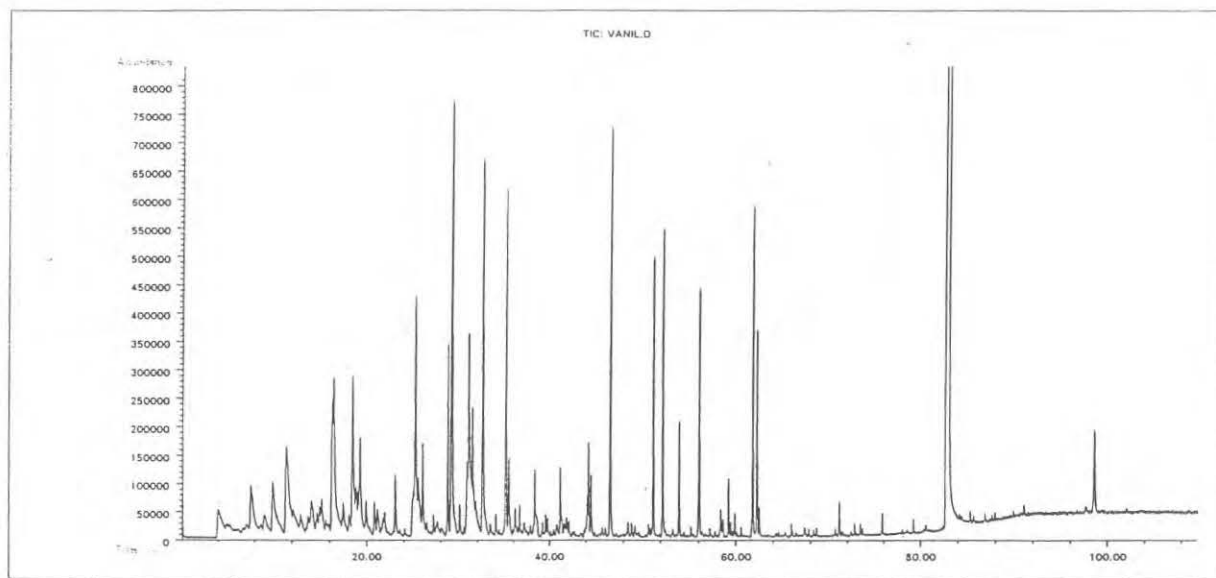
Dans ce contexte, un protocole d'échantillonnage au cours de la transformation a été mis en place depuis août 1997 en collaboration avec la Maison de la Vanille sur un lot qui sera suivi jusqu'en fin de préparation, c'est-à-dire vers juillet-août 1998. Sur chacun des échantillons, des analyses avec et sans enzymage seront réalisées afin de connaître, à chaque étape, la concentration des différents composés aromatiques par rapport au potentiel total, ce qui permettra d'évaluer l'efficacité de l'enzyme endogène après les traitements (notamment thermiques) que subissent les gousses. Les résultats devraient permettre d'identifier les étapes cruciales de la préparation, et de mesurer leur impact sur le bon déroulement de la maturation aromatique de la vanille.

Des analyses par la technique dite de "l'espace de tête" (voir plus loin) seront aussi réalisées sur ces échantillons, ce qui permettra d'obtenir une caractérisation plus fine de la qualité aromatique des gousses.

III- Etude des précurseurs d'arômes de la vanille.

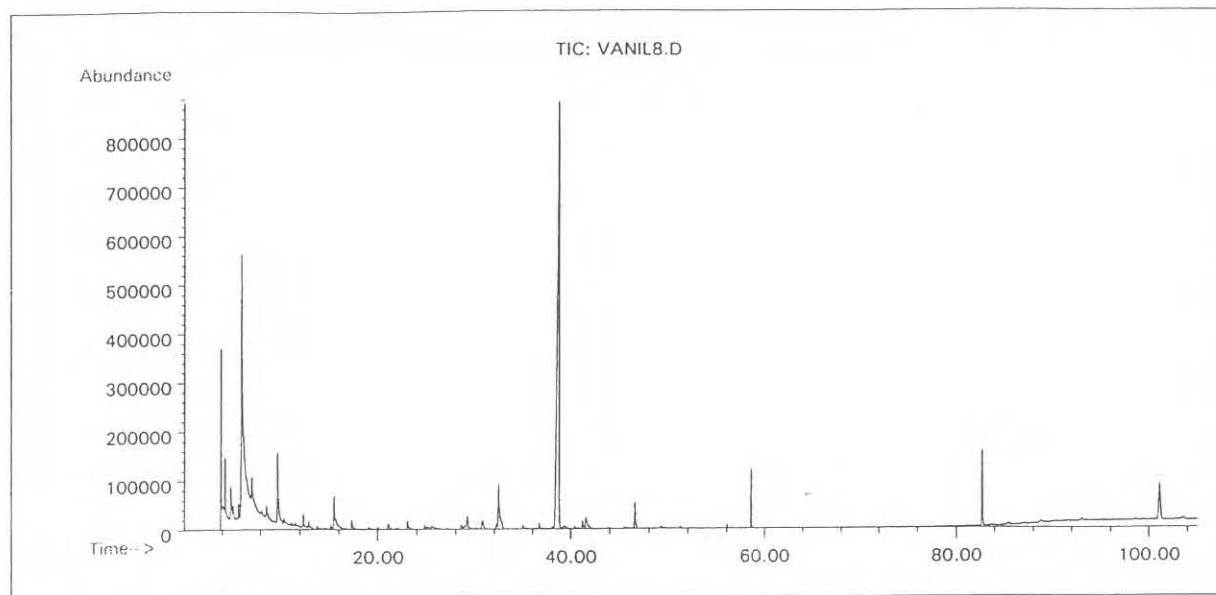
Cette partie a principalement consisté en la mise au point de techniques analytiques permettant d'étudier l'évolution des composés aromatiques responsables de l'arôme caractéristique de la vanille noire.

Dans ce but, nous avons essayé d'utiliser la chromatographie en phase gazeuse (CPG), technique plus sensible et plus efficace que la chromatographie liquide haute pression (HPLC) pour l'étude des composés très volatils. Ces composés très volatils sont ceux que l'on perçoit lorsque l'on sent une gousse de vanille ; les techniques dites "d'espace de tête" sont celles qui reflètent le mieux l'arôme dégagé par un produit. Ces techniques consistent à placer le produit dans un flacon hermétiquement fermé et à piéger les molécules qui se volatilisent dans l'air ambiant. Le produit peut être balayé par un flux de gaz inerte (azote, hélium) qui entraîne les molécules à travers un piège sur lequel elles vont s'adsorber : c'est l'espace de tête dynamique, qui est la technique la plus sensible. Le produit peut aussi être laissé uniquement en équilibre avec la phase d'air ambiante : c'est l'espace de tête statique, moins sensible mais qui ne demande pas de matériel supplémentaire. Différentes variantes de piégeage existent, et nous avons testé la dernière évolution, et la plus intéressante, appelée Solid Phase Micro Extraction (SPME). Cette technique consiste à mettre en contact une fibre adsorbante avec la phase d'air saturée en molécules aromatiques, sur laquelle ces dernières vont s'adsorber. Les résultats obtenus sont tout-à-fait intéressants comme en témoigne le profil aromatique suivant, réalisé sur vanille noire :



Chaque pic correspond à un ou plusieurs composés qu'il s'agira par la suite de mieux séparer et d'identifier. Le composé quantitativement majoritaire de ce profil, sortant vers 84 minutes, est bien entendu la vanilline. On constatera néanmoins qu'un grand nombre de composés sont présents, et que la vanilline n'est qu'une composante parmi d'autres de l'arôme total.

A titre d'exemple, le profil aromatique d'une gousse de vanille verte, et obtenu dans les mêmes conditions, est présenté, afin de constater la différence de composition.



Cette technique est extrêmement intéressante, et permettra de réaliser un suivi précis dans l'évolution de la composition aromatique des gousses au cours de la transformation.